EVALUATION DE LA TOXICITÉ CHRONIQUE

Dr MEGUEDDEM.M

PLAN

DÉFINITION

MÉCANISME D'ACTION TOXIQUE

EVALUATION DE LA TOXICITÉ CHRONIQUE

- A/ ETUDES EXPÉRIMENTALES IN VIVO
- B/ TESTS SPÉCIAUX
- C/ ETUDES IN VITRO
- D/ METHODES ASSISTÉES PAR ORDINATEUR

CONCLUSION

DÉFINITION

DÉFINITION

TC = L'absorption de doses minimes, souvent répétées de la substance à tester, pendant une longue période de temps, produisant une intoxication beaucoup plus insidieuse, apparaissant en général sans aucun signe d'alarme.

- La manifestation la plus grave : **LA CANCÉROGENÈSE**
- D'autres types d'effets toxiques chroniques :
  - ✓Sur la reproduction,
  - ✓Sur le système nerveux,
  - ✓Mutation…

DÉFINITION

- Souvent **insidieuse.**
- D'apparition **brutale.**
- Elle peut être **réversible ou non.**
- Sujette a une susceptibilité individuelle : l'âge, le sexe, les habitudes alimentaires, le tabagisme, l'alcool, les facteurs génétiques…**=Seuil d'innocuité difficile à déterminer**

MÉCANISME D'ACTION TOXIQUE

MÉCANISME D'ACTION TOXIQUE

Peut se manifester par l'un de ces 02 mécanismes :

a) **Accumulation du toxique**

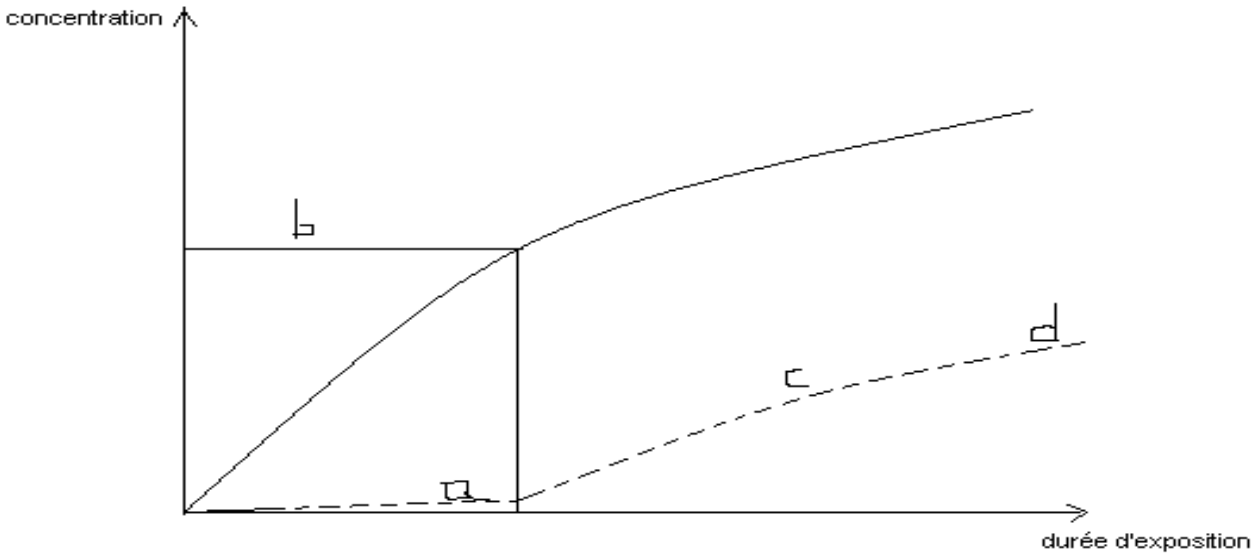
b) **Accumulation des Effets**

MÉCANISME D'ACTION TOXIQUE

a) Accumulation du Toxique :

- Lors d'une exposition répétée, la quantité éliminée est inferieure à la quantité absorbée , ce qui va entrainer une augmentation de la concentration du toxique dans l'organisme jusqu'à un taux susceptible d'engendrer des effets néfastes.
- **Ex:** pb-Cd-Hg-As....
- Généralement **réversible** car l'élimination intervient pour limiter les phénomènes après arrêt de l'exposition.
- Effet proportionnel à la dose .

a) ACCUMULATION DU TOXIQUE



__ : concentrations du toxique dans l'organisme.
- - : intensité des effets.
a : début des altérations biochimiques ou physiologiques.
b : concentration seuil où le 1er effet biologique se manifeste.
c : apparition des manifestations cliniques.
d : mort de l'organisme

a) Accumulation du Toxique :

❖ Facteurs favorisants l'accumulation du toxique :

- Facteurs physiques :

✓ **Solubilité :** les toxiques liposolubles ont tendance à s'accumuler au niveau des tissus adipeux. Ex : cannabis .

✓ **PM :** les toxiques a fort PM auront tendance à être éliminé plus difficilement que ceux possédant un faible PM, ceci favorise leur accumulation .

- Facteurs chimiques :

✓ **Affinité de certains toxiques pour les groupement thiols et kératine des phanères.** Ex : As.

✓ **Structure chimique :** Hg inorganique s'accumule au niveau rénal alors que Hg organique est beaucoup plus toxique au niveau du SNC.

a) Accumulation du Toxique :

- Facteurs biologiques :

Certains toxiques s'accumulent dans l'organisme sans entraîner aucun effet visible qu'après leur libération dans des conditions précises :

✓ EX: Les toxiques cumulatifs dans les graisses : OC seront libérés pendant la période de jeun causant une toxicité du SNC.

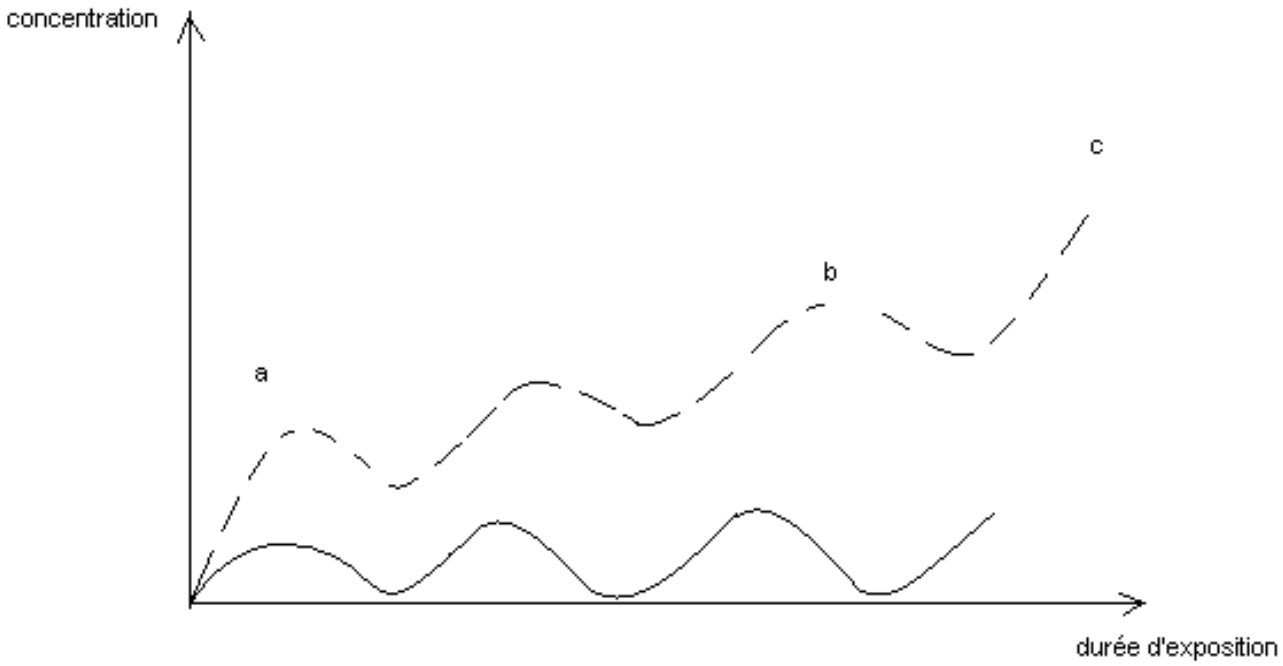
MÉCANISME D'ACTION TOXIQUE

b) Accumulation des Effets :

- Phénomène de **sommation d'effets .**
- Le toxique ne s'accumule pas dans l'organisme
- Les effets s'additionnent lors de l'exposition répétée .
- L'effet est souvent **irréversible** .
- Effet indépendant de la dose du toxique .

Ex: Ethanol-OP-Cancérogènes (Nitrosamines).

b) ACCUMULATION DES EFFETS



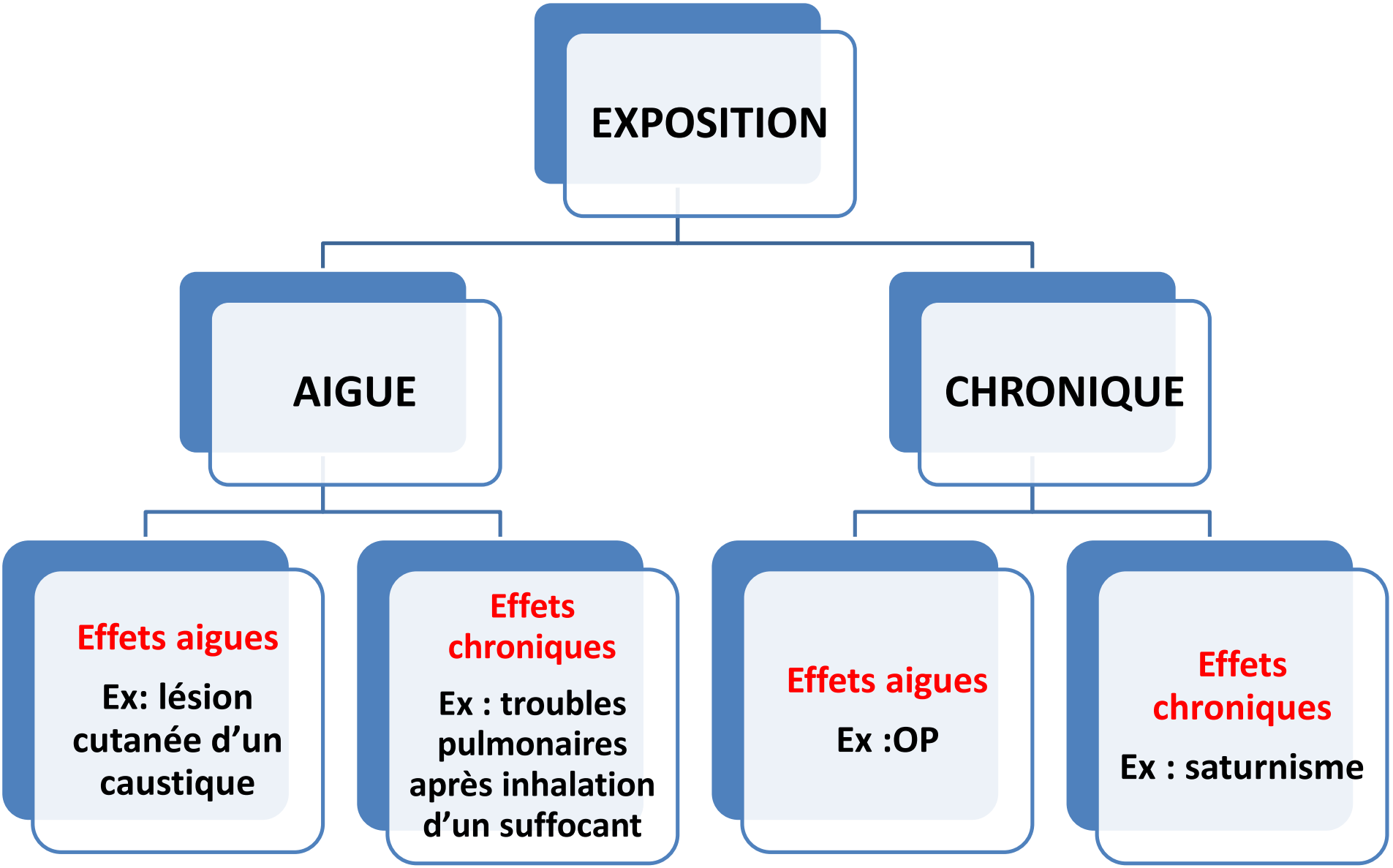
a---b : Altérations biochimiques ou physiologiques qui s'accentuent à chaque nouvelle exposition.

b : Apparition des manifestations cliniques.

c : mort de l'organisme

L’une comme l’autre passe par une phase muette

Distinguer entre Exposition aigue ou chronique et un Effet aigue ou chronique


EXPOSITION
AIGUE
CHRONIQUE
Effets aigues
Ex: lésion cutanée d'un caustique
Effets chroniques
Ex : troubles pulmonaires après inhalation d'un suffocant
Effets aigues
Ex :OP
Effets chroniques
Ex : saturnisme

EVALUATION DE LA TOXICITÉ CHRONIQUE

OBJECTIFS

- Détermination de la Dose sans effet : Dose maximal n'induisant aucun signe de toxicité dans l'espèce animal la plus sensible.
- Calcul de la DJA
- Identification des organes cibles .
- Caractérisation de la relation dose-effet .
- Prévision des effets de toxicité chronique au niveau représentatif de l'exposition humaine .
- Obtention de données permettant de vérifier les hypothèses concernant le mode d'action.

TYPES D'ÉTUDES

A. **Etudes expérimentales in vivo** : qui utilisent des animaux (ex. : rats , primates).
B. **Tests spéciaux :** mutagénèse, cancérogénèse et tératogénèse.
C. **Etudes *in vitro* :** effectuées sur des cultures de tissus ou des cellules.
D. **Méthodes assistées par ordinateur**
E. **Etudes épidémiologiques :** qui comparent plusieurs groupes d'individus ou les études de cas.

A/ ETUDES EXPÉRIMENTALES IN VIVO

Protocole Expérimental :

- La durée de l'expérimentation est de 06 mois à 02 années.
- La détermination des doses se fait par tâtonnement en tenant compte des résultats de la DL_{50} (en pratique courante on essaie avec des doses entre le 1/30 et le 1/10 de la DL_{50}). Utilisées toute la semaine et pendant toute la durée de l'épreuve :

Protocole Expérimental :

- ✓ La Dose la plus basse est proche mais toujours sensiblement supérieure à la dose thérapeutique présumée.
- ✓ La Dose la plus élevée est choisie de façon à faire apparaître des effets nocifs, qu'ils soient fonctionnels, biologiques ou anatomiques.

- L'étude doit être effectuée sur 02 espèces de mammifères dont l'une ne doit pas appartenir à l'ordre des rongeurs. **Ex:** le Rat et le Chien.

Protocole Expérimental :

- La voie :
  - **Orale :** est la plus fréquente, se fait par incorporation dans la nourriture ou l'eau de boisson ou par gavage de la substance d'essai **7jr/semaine.**
  - **Pulmonaire et cutanée** a raison de 6heures par jour et ce **7jr/semaine.**
- Le choix de la voie d'administration prendra en compte :
  - Les caractéristiques physico-chimiques de la substance d'essai .
  - La voie d'exposition prédominante chez Homme.

Protocole Expérimental :

- L'appréciation des effets toxiques est faite de la manière suivante:
  - ✓ **L'observation clinique*:*** modification de l'humeur, l'agressivité, l'existence de diarrhée…
  - ✓ **L'observation de la courbe de poids des animaux et celle de leur consommation alimentaire** (au moins 01 Fois/S).

Protocole Expérimental:

- L'expérimentation proprement dite a été précédée par une série d'examens hématologiques et biochimiques. Les examens sont répétés à intervalle régulier durant l'étude de la toxicité.

- À l'issue de l'expérimentation, les Animaux sont sacrifiés, et un examen macroscopique est réalisé. Tous les organes sont pesés et préparés pour l'étude anatomopathologique.

ETUDES EXPÉRIMENTALES IN VIVO

AVANTAGES

- Conditions d'études bien contrôlées.
- Mesure de plusieurs réponses.
- Possibilité d'étudier les caractéristiques de l'hôte .

INCONVENIENTS

- Extrapolation difficile à l'homme.
- De pertinence discutable.
- Sacrifice important d'animaux
- longue et onéreuse

B/ TESTS SPÉCIAUX

I/ Etude de la cancérogenèse

Protocole Expérimental :

- Cette étude nécessite une surveillance des Animaux pendant toute leur vie.
- Des précautions draconiennes doivent être prises pour éviter les maladies infectieuses dans l'élevage :

I/ Etude de la cancérogenèse

Protocole Expérimental:

- ✓ Utilisation d'Animaux indemnes de germes pathogènes,
- ✓ Utilisation de Matériel et de Litières stérilisées,
- ✓ Ventilation avec de l'air filtré et traité par un rayonnement UV dans lequel l'entrée du personnel est sévèrement règlementée.

I/ Etude de la cancérogenèse

- Durée d'observation des Animaux:
  - ✓ 24 mois pour le Rat
  - ✓ 18 mois pour la Souris.

Selon la Littérature : 60 à 90% des cancers humains ont pour origine des Facteurs Environnementaux.

II/ ETUDE EXPÉRIMENTALE DE L'EMBRYOTOXICITÉ ET DES EFFETS SUR LA REPRODUCTION ET LE MATERIEL GENETIQUE

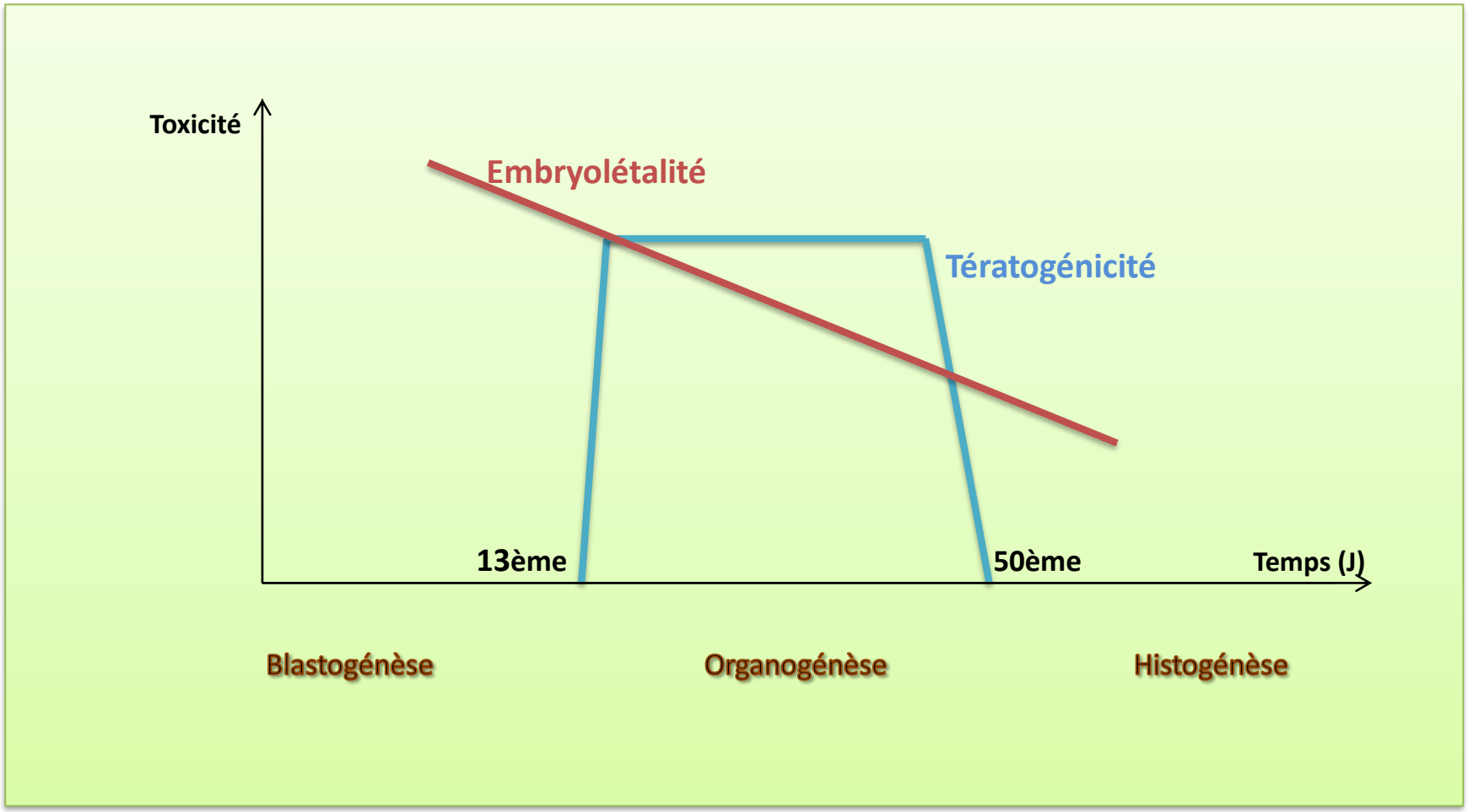
- EN PRATIQUE **L'EMBRYOTOXICITÉ** =

✓ **Embryolétalité :** se traduit par la mort de l'embryon (ou du fœtus).

Elle intervient quand le produit a pu exercer sa toxicité dans **les premiers stades de la multiplication de l'œuf (stade blastula)**. Ce risque diminue au fur et à mesure de la gestation.

✓ **Tératogénécité :** se traduit par l'apparition de manifestations plus ou moins graves qui sont généralement compatibles avec la survie de l'individu.

Elle ne **se manifeste que pendant l'organogenèse (jusqu'au 3^{éme} mois)**.


Toxicité
Embryolétalité
Tératogénicité
13ème
50ème
Temps (J)
Blastogénèse
Organogénèse
Histogénèse

- L'étude expérimentale de l‘Embrytoxicité s'est surtout développée après les Accidents survenus, chez les femmes enceintes, dans plusieurs pays, à la suite de l'utilisation, à partir de 1958, de la **Thalidomide** comme Sédatif et Anti vomitif.
- À l’origine de graves malformations congénitales.

a) Pouvoir Tératogène

- Une Substance est tératogène lorsqu' elle provoque chez l'embryon (ou le fœtus) **des anomalies**, **des malformations**, ou **des monstruosités congénitales**.

  - ✓ **Une Anomalie** : est une altération morphologique permanente d'un organe ou d'un tissu qui n'affecte pas les principales fonctions physiologiques.
  - ✓ **Une Malformation** : est une altération morphologique permanente plus grave qui affecte une fonction physiologique.
  - ✓ **Une Monstruosité** : est une altération morphologique permanente et très grave qui affecte plusieurs fonctions physiologiques et compromet la survie de l'individu.

a) Pouvoir Tératogène

- Des lots de 20 Rats (ou Souris) gestantes et de 12 à 20 Lapines.
- Le produit est administré uniquement pendant l'embryogenèse ($6^{ème}$- $15^{ème}$ jour de la gestation chez le Rat et la Souris).
- Chez la femme la période de sensibilité aux produits tératogènes est du $13^{éme}$ au $50^{éme}$jour.
- On constitue 04 Lots : 01 témoin et 03 traités.

a) Pouvoir Tératogène

- Les Femelles gestantes dont l'évolution pondérale a été régulièrement suivie, sont sacrifiées quelques jours avant la date présumée de la mise-bas:
  - ✓ Souris: 18ème jour
  - ✓ Rate: 19ème jour
  - ✓ Lapine: 28èmejour

- Une étude Anatomopathologique est réalisée.

b) Pouvoir Mutagène

- Une Substance est dite Mutagène si elle provoque un changement d'un texte chimique constituant le matériel génétique.
- **La mutation peut être** :
  - ✓ Chromosomique
  - ✓ Génomique
- Chez l'Animal (Ex : DDT , Chlorure de vinyle…)

b) Pouvoir Mutagène

Toute Substance Mutagène peut être à 95% Cancérogène.

Une Substance Cancérogène n'est pas obligatoirement Mutagène.

b.1. Tests de Mutagénèse

❑Test d'AMES (Muta test) = test In-vitro:

- 02 Souches Bactériennes de S. typhimurium Histidine –, sont exposées à la substance à tester, et ensemencées dans un milieu Histidine +, qu'elles ne peuvent pas synthétiser.

- Ce test mesure la réversion de mutants **Hist dépendants** de S. typhimurium vers le type sauvage qui est **Hist. Indépendant**, sous l'action de la molécule testée.

❑ Test aux Microorganismes (Méthode de l'hôte intermédiaire)= Test In-vivo

- Les Microorganismes sont introduits dans la cavité péritonéale d'un mammifère hôte (Souris).
- La molécule à tester est administrée préalablement.
- Après quelques heures, sacrifier l‘Animal et récupérer les microorganismes pour examiner les mutations éventuelles.

❑ Anomalies chromosomiques:

- ➢ Sur Levures, Plantes…
- ➢ Se manifestent par des aberrations structurales ou par une modification du nombre de chromosomes.

❑ Altération de L'ADN

C/ ETUDES IN VITRO

- Réalisées sur des cellules et des tissus issus d'un seul sujet qu'il soit un animal ou un humain , cultivées sur des boites de pétri ou dans des tubes à essai .

- Ils livrent une grande quantité d'informations sur la toxicité intrinsèque d'un produit ou sur son mécanisme de toxicité cellulaire ou moléculaire.

- Sont considérées comme **complément des études in vivo.**

D/ MÉTHODES ASSISTÉES PAR ORDINATEUR

- **Les** systèmes sur ordinateur tels que : DEREK, COMPACT (Analyse paramétrique moléculaire de la toxicité chimique optimisée sur ordinateur) permettent d'identifier les substances potentiellement toxiques et d'établir les relations Structure/Activité .

Ces programmes visent une modélisation informatique bio-cinétique.

E/ ETUDES EPIDEMIOLOGIQUES

- Permettent de comparer la fréquence d’une maladie au sein d'un groupe de personnes exposées à un agent suspect à celle d’un groupe de personnes non exposées.

- **Avantages :** Conditions d’exposition réalistes, Effets mesurés chez l’homme, Grande sensibilité.

- **Inconvénients :** Essais couteux, Longue durée, Effets difficile a quantifier.

CONCLUSION

- Comme pour la Toxicité aigue (TA), le risque d'erreur est toujours possible lors de l'extrapolation des résultats de l'animal à l'homme. En effet il est **impossible** de reproduire chez l'animal de laboratoire certaines atteintes neurologiques (syndrome extrapyramidal…).